— Note —

Non-surgical Collection of Uterine Eggs in the Rat

Yoshiro ISHIJIMA, Mamoru TOGASHI and Shogo KITAJIMA

*Department of Zootechnical Science, Tokyo University
of Agriculture, Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan*

(Received for publication February 29, 1980)

The non-surgical collection of rat embryos were examined. The apparatus for uterine flushing (Fig. 1 and 2) were designed to have a two-way system. Egg collection were made 5 days after mating. Eggs were collected from anesthetized donors using a pair of glass pipettes inserted to the end of each uterine horn through the cervix uteri. By non-surgical technique, it was successful to collect the eggs at an average of 4.0 from all the animal. The recovery rate was 40.7% as estimated the number of corpora lutea counted after the slaughter of the donor. The recovery rate in non-surgical methods was considerably lower as compared with that of the uterine flushing after the slaughter.

ラット子宮内卵子の非外科的採取

石島 芳郎・富樫 守・北島 省吾

東京農業大学畜産学科

ラット、マウス、ハムスターなどの実験動物の卵子の採取は、一般には動物をそのつどと殺し、摘出した卵管・子宮を灌流する方法が用いられているが、この方法では同一個体の卵子を何度も使用することができないので、遺伝、育種上の研究に卵子を利用する際に、近交系でない動物では不都合を生じる場合がある。従って、実験動物においても、家畜で開発されているような生体のまま手術によって採卵する外科的方法や頸管経由で子宮内の胚を採取する非外科的方法があれば便利である[1]。しかしながら、実験動物では体が小さいこともあって、この種の試みはほとんど検討されておらず[2,12]とくに非外科的採卵に関しては、ウサギで交尾後種々のホルモンを投与して、腔に落した卵子を採取した例[7~11]がある以外は見当たらない。そこで本実験では、ラットの子宮内胚の非外科的採取法の開発を目的に、先ずごく簡単な大小2本のガラス管を利用して採取を試みた。

この実験には本学で閉鎖集団として維持している Sprague-Dawley 系ラットの成熟未経産雌(生後3~4カ月齢)を供試した。飼育は室温 $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、明暗12時間:12時間の条件下で行なった。

供試ラットは、性周期の規則正しいものを選び、スミア検査によるI期の夕方5時に雌雄1:1の割合で同居させ、翌朝スミア中に精子を確認したもののみを用いて、交配後5日目の午前中に卵子の採取を行なった。

非外科的卵子の採取は Fig 1~2 に示すような方法で行なった。すなわち、雌ラットをネブタールで麻酔して保定台にあおむけに保定し、最初にオートスコープを腔に挿入して子宮頸管外口部を見ながら誘導用ガラス棒を頸管を通して子宮内に挿入する (Fig 1-1)。次にオートスコープを抜き取り、ラッパ状ガラス管を誘導用ガラス棒に沿って子宮内に挿入する (Fig 1-2)。次いで誘導用ガラス棒を抜き取り、子宮灌流液注入用ピペット

Fig. 1 The apparatus and procedure used in the present study for the non-surgical recovery of uterine embryos of rats. 1. The narrow glass rod as inducer was inserted into the uterine lumen through the cervix using an otoscope. 2. The trumpet-shaped glass tube was gently inserted into the end of uterine lumen through the cervix along the inducer, and then removed inducer. 3. The narrow glass pipette was passed into the uterine lumen through the trumpet-shaped glass tube. Then, flushing fluid was infused through a glass pipette by an injector. The washings returned through the glass tube were recovered in the watch-glass.

Fig. 2 Diagram of methods used for the non-surgical flushing. A. Trumpet-shaped glass tube, B. Glass pipette, C. Syringe, D. Watch-glass.

をラッパ状ガラス管の中を通して子宮内に届くように挿入し、ゴム管でつないだ注射筒内の灌流液（0.85%生理的食塩水、1回に0.6—1ml）を静かに注入していく（Fig 1—3）。このような手順でラッパ状ガラス管を通ってもどってくる液（液回収率70%）を時計皿に受け取った（Fig 2）。この方法は両側の子宮角に行なった。採取器具の形、大きさは Fig 2 に示す通りである。卵子を採取後、雌をと殺し黄体数を検査し、黄体数を排卵数とみなして、採卵率を求めた。比較のためこれとは別に、交配後5日目の午前中にと殺した雌の子宮を摘出し、子宮灌流法によって卵子を採取し、同様に採卵率を求めた。

既述の方法で交配後5日目のラットの子宮内卵子の非外科的採取を試みた結果、Table 1 に示すように、30匹の雌すべてから総数119個（平均4.0個）の卵子（ほとんど胚盤胞期胚）の回収に成功し、その採卵率は、40.7%であった。この非外科的方法による採卵率は、摘出子宮灌流法の採卵率（81.0%）に比べるとまだ非常に低いものであった。しかし、過排卵誘起したウシの子宮内胚の非外科的採取法による採卵率をみても40~60%が現状なので[1, 3~6] 本実験のような小型の動物を扱っての成績としてはまずまずの出来といえよう。

本実験の採卵結果から、用いた器具の反省をしてみると、ラッパ状ガラス管の先端をできる限り太くすることが理想ではあるが、外径1.4mm以上をこすと挿入時に頸管を痛めることなどから限度があり、結局すき間からの液の漏出を防ぎきれなかったこと、また、灌流液注入用ピペットの先端を子宮角内に挿入する場合、ガラス製のために折れる危険性があり、ごく浅くしか入れることができなかったのが子宮角上部の洗滌が不完全であった

Table 1. Comparison of the recovery rate of uterine embryos
by non-surgery and slaughter

Method	No. of animals attempted	Total No. of CL*	Total No. of embryos recovered	% recovery	Average No. of embryos animal
Non-surgery	30	293	119	40.7	4.0
Slaughter	25	258	209	81.0	8.4

Embryos were collected in all attempts

*CL counted after slaughter of the donors

ことなどが考えられる。

したがって、今後、採卵率を向上させるには、安全な材質のもので子宮内液を完全に回収できる器具を考案することが先決であろう。

文 献

- [1] Betteridge, K. J. (1977). Embryo Transfer in Farm Animals, pp. 10-19. Canada Department of Agriculture, Ottawa.
- [2] Dickmann, Z. (1971). Methods in Mammalian Embryology, pp. 133-145. Daniel, Jr. J. C. (edit), W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- [3] Elsdon, R. P., Hasler, J. F., and Seidel, G. F. Jr. (1976). Theriogenology, **6**, 523-532.
- [4] Newcomb, R., Christie, W. B., and Rowson, L. E. A. (1978). Vet. Rec., **102**, 414-417.
- [5] Rowe, R. F., Del Campo, M. R., Eilts, C. L., French, L. R., Winch, R. P., and Ginther, O. J. (1976). Theriogenology, **6**, 471-483.
- [6] 杉江 侑・相馬 正・福光 進・大槻清彦 (1972). 畜試研報, **25**, 27-33.
- [7] 武田哲男・山本謙二・田辺泰博・堤 義雄 (1977). 北大農邦文紀要, **10**, 231-240.
- [8] Takeda, T., Tsutsumi, Y., Tanabe, Y., and Yamamoto, K. (1977). Fertil. Steril., **28**, 759-761.
- [9] Takeda, T., Suzuki, H., Matsui, S., Terami, Y., and Tsutsumi, Y. (1978). Japan. J. Anim. Reprod., **24**, 184-191.
- [10] Tsutsumi, Y., Takeda, T., Yamamoto, K., and Tanabe, Y. (1976). J. Reprod. Fert., **48**, 393-395.
- [11] Tsutsumi, Y., Takeda, T., Ida, M., and Hara, S. (1978). J. Facul. Agr., Hokkaido Univ., **58**, 557-574.
- [12] 湯原正高・内海恭三・野上与志郎・坂本寿文・奥山 博 (1973). 岡大農学報, **42**, 27-32.